مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و پتانسیل ضدمیکروبی عصاره آلوئه‌ورا بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی: یک مطالعه آزمایشگاهی

نرگس شریفات[۱]، **محمد امین مهرنیا*[۲]**، حسن برزگر[۲]، بهروز علیزاده بهبهانی[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۵

کلمات کلیدی:

ژل آلوئه‌ورا،

ضدباکتری،

ترکیبات زیست‌فعال،

نگهدارنده طبیعی.

DOI:10.22034/FSCT.22.158.172.

* مسئول مکاتبات:

mehrnia@asnrukh.ac.ir

چکیده

در جوامع امروزی مصرف مواد غذایی با ترکیبات و نگهدارنده‌های طبیعی به‌دلیل آگاهی مصرف‌کننده به تأثیر رژیم غذایی بر سلامت و پیشگیری از بیماری‌ها افزایش یافته است. به همین منظور در این پژوهش میزان فنل و فلاونوئید تام، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و اثر ضدمیکروبی عصاره آبی به‌دست آمده از برگ گیاه آلوئه‌ورا مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان فنل و فلاونوئید کل به ترتیب ۴۱/۶۱ میلی‌گرم گالیک‌اسید در هر گرم عصاره و ۷۸۳/۳۳ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره اندازه‌گیری شد. بالاترین درصد مهارکنندگی برای رادیکال آزاد DPPH ، ۶۸/۳۹٪ و برای رادیکال آزاد ABTS ، ۵۰/۰۷٪ در بیشترین غلظت (۶۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مشخص شد. باتوجه به نتایج به دست آمده، بیشترین اثر ضدمیکروبی عصاره در روش‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار بر باکتری‌های گرم مثبت بود. کمترین غلظت بازدارنده از رشد برای پاتوژن‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری* ، *سالمونلا تیفی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب برابر با ۳۲، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۳۲ و ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. درکل می‌توان گفت عصاره آبی آلوئه‌ورا یک ترکیب آنتی‌اکسیدان و ضدمیکروب مناسب است و می‌توان از آن به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی استفاده کرد.

۱-مقدمه

تاکنون شواهد بسیاری در مورد اثر مستقیم مواد غذایی بر سلامت انسان به‌دست آمده که تمامی این شواهد میزان نیاز و درخواست مصرف‌کننده را برای در دسترس قرار گرفتن غذاهای سالم و مغذی بالا برده است. همچنین شیوع بیماری‌هایی چون سرطان، دیابت و مشکلات قلبی و عروقی ناشی از رژیم غذایی و نحوه زندگی نادرست در جوامع امروزی؛ باعث نگرانی مردم و تجدیدنظر در سبد مصرفی شده‌است. گیاهان برای قرن‌ها در زمینه‌های مختلفی چون مصارف غذایی و دارویی مورد استفاده انسان‌ها قرار می‌گرفتند. در واقع وجود ترکیبات مشتق شده از متابولیسم ثانویه گیاه چون ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، ترپینوئیدی و دیگر ترکیبات مفید زیستی و همچنین فیبر بالا باعث شده گیاهان نه‌تنها به‌عنوان منابع غذایی مصرف شوند بلکه از قدیمی‌ترین راه‌های پیشگیری یا درمان بیماری‌های مختلف باشند که تا امروز نیز این روند ادامه یافته است [۱ و ۲].

در صنعت غذا نیز می‌توان از گیاهان و ترکیبات درون آن‌ها به‌صورت مستقیم و یا غیرمستقیم بهره برد. یکی از راه‌های افزایش طول عمر و ماندگاری مواد غذایی استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی است. این نگهدارنده‌ها به‌دلیل نگرش منفی مردم به مصنوعی بودنشان که با افزایش آگاهی آن‌ها درمورد محصولاتی که روزانه مصرف می‌کنند ایجاد شده‌است؛ به‌مرور درحال جایگزینی با نگهدارنده‌های طبیعی یا همان عصاره‌ها یا اسانس‌های گیاهی‌اند. عصاره‌های گیاهی مایعات سبز نام دارند که با استفاده از حلال‌های مختلفی چون آب، اتانول، متانول و اتیل استات از قسمت‌های مختلف گیاه استخراج می‌شوند. خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی ازجمله ویژگی‌های ناشی از ترکیبات و ماهیت عصاره‌های گیاهی هستند. می‌توان اظهار داشت که خواص ضدمیکروبی عصاره‌های اتانولی بیشتر از عصاره آبی می‌باشد. قسمت‌های مختلف گیاهان دارای مقادیر متفاوت این ترکیبات از جمله پلی‌فنل‌ها هستند که تأثیر بسزایی در کاهش اکسیداسیون دارند. در واقع عصاره‌های گیاهی با حضور در مواد غذایی باعث ایجاد یکسری تغییرات در محیط شده که باتوجه به خواست مهندسان صنایع غذایی می‌توانند نتایج مطلوبی را در محصول اعمال نمایند [۳، ٤ و۵].

شرایط سخت و نامطلوب رشد گیاه و اجتماع رادیکال‌های آزاد موجب ایجاد سیستم‌های پیچیده آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدانی در آن‌ها شده است. سیستم غیرآنزیمی با مکانیسم‌های مختلف باعث افزایش مقاوت سلول‌های گیاه در برابر استرس اکسیداتیو شده و در نتیجه با مصرف توسط انسان این ویژگی را در بدن نیز تقویت می‌کند. استرس اکسیداتیو مسئول برخی از اختلالات و بیماری‌ها مانند آلزایمر، سرطان، تصلب شرائین و اختلالات قلبی عروقی در انسان می‌شود. درواقع وجود ترکیبات پلی‌فنلی باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیداسیونی و ایجاد تعادل در بدن می‌شوند. قابل ذکر است که این ترکیبات حتی در غلظت‌های پایین نیز اثر خود را اعمال خواهند کرد [٦].

امروزه مقاومت پاتوژن‌ها در برابر فعالیت مهاری یا تخریب توسط آنتی‌بیوتیک‌ها به‌خاطر استفاده بی‌رویه و نامنظم بالا رفته است. جداسازی ترکیبات زیست‌فعال مشتق شده از گیاهان دارویی با توجه به ماهیت درمانی و ترکیبات مفید زیاد، تنوع بالا و دسترسی ارزان و آسان رویکردی مناسب برای مقابله علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا ارائه می‌دهند. سازمان بهداشت جهانی[1] مقاومت میکروبی را فوری‌ترین مسئله‌ای اعلام کرده که پزشکی با آن مواجه شده است. برای رفع این مسئله نوظهور و باتوجه به این امر که درحال حاضر نیز درصدی از داروهای مورداستفاده منشأ گیاهی دارند؛ با شناسایی ترکیبات ضدمیکروب گیاهان مختلف و استفاده از آن‌ها می توان به کشف و تولید داروهای جدید با عملکرد مناسب در برابر پاتوژن‌های مقاوم‌شده به‌دست آورد. در نتیجه تعیین میزان فعالیت ضدمیکروبی گیاهان مختلف به هدفی برای محققین و پژوهشگران تبدیل شده است [۷ و ۸].

آلوئه‌ورا[2] از خانواده *Liliaceae* گونه گیاهی سبز و چندساله است که بیشتر در مناطق خشک و گرم (خاورمیانه، شمال

1 - World Health Organization (WHO)

2 - Aloe vera

آفریقا و مدیترانه جنوبی) می‌روید و از هزاران سال پیش به‌عنوان گیاهی دارویی برای درمان زخم، سوختگی و التهاب پوست مورد استفاده قرار می‌گرفته‌است. این گیاه دارای حدود ۹۸ درصد آب است و درون لاله‌های سبز رنگ آن فیله بی‌رنگ قرار گرفته است. امروزه از ژل به‌دست آمده از فیله درون برگ‌های گوشتی آن در صنایع دارویی، آرایشی و غذایی استفاده می‌شود. به ژل بی‌رنگی که از درون برگ‌ها به‌دست می‌آید، موسیلاژ آلوئه‌ورا می‌گویند. درون این ژل بیش از ۷۵ ترکیب مفید مانند ویتامین‌ها، آنزیم‌ها، موادمعدنی، آنتراکینون‌ها، اسیدهای چرب و کربوهیدات وجود دارد که هرکدام از این ترکیبات ویژگی‌ها و خواص درمانی مهمی چون خاصیت ضد دیابت، ضدسرطان و ضد چربی خون را باعث می‌شوند. پژوهش‌های مختلفی نشان داده است که وجود پلی‌ساکارید آسه‌مانان به‌عنوان پلی‌ساکارید عمده و حضور آنتراکینون‌های آلوئه‌ورا، عامل اصلی خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آن است که موجب استفاده از این ژل و یا ترکیبات جدا شده از آن به عنوان نگهدارنده در زمینه‌ها و محصولات مختلف غذایی شده‌است. همچنین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی این گیاه تأثیر بسزایی در این امر دارند [۹ و ۱۰].

ژل آلوئه‌ورا به‌دلیل محتوای آب و فیبر بالای خود بین مردم به‌عنوان یک ماده خوراکی رژیمی برای کاهش وزن شناخته شده است. محصولات پودری، نوشیدنی و حتی ژل آن مورد مصرف بیماران دیابتی و یا افراد مبتلا به چاقی مزمن قرار می‌گیرد. از این ژل به‌واسطه دارا بودن خاصیت ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی در فیلم و پوشش‌های خوراکی برای بسته‌بندی زیست فعال مواد غذایی استفاده می‌شود. افزودن این ژل به مواد خوراکی مخلفی چون سس‌ها، لبنیاتی چون پنیر و ماست و همچنین بستنی نیز گزارش شده است [۱۱]. ترکیبات فعال گزارش شده در برگ این گیاه که در خواص درمانی آن دخیل هستند شامل: ساپونین، آلوئه‌سین، آنزیم‌ها، قندها، استرول‌ها، کرومون‌ها، آنتراکینون‌ها، آلوئین، آلوئه‌امودین، استرول‌ها، لیگنین، سالسیلیک اسید، فلاونوئیدها، مواد معدنی و ترکیبات فنلی هستند. در مطالعه‌ای فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی برگ این گیاه دربرابر سویه‌های باکتریایی چون *اشرشیا کلی*[۳]، *استافیلوکوکوس اورئوس*[۴] و *باسیلوس سرئوس*[۵] و برخی قارچ‌ها بررسی شد که نتایج خوبی را نشان داد [۱۲].

همچنین میزان مواد فلاونوئیدی و همچنین پتانسیل آنتی‌اکسیدانی دو عصاره آبی و اتانولی آلوئه‌ورا بررسی شد و به اثبات رسید [۱۳]. هدف از این پژوهش، تعیین میزان فنل و فلاونوئید کل، ارزیابی اثر آنتی‌اکسیدانی و فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی به‌دست آمده از برگ آلوئه‌ورا با روش‌های انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، انتشار چاهک در آگار و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی[۶] و حداقل غلظت کشندگی[۷] بر پاتوژن‌های *اشرشیا کلی*، *شیگلا دیسانتری*[۸]، *سالمونلا تیفی*[۹] ، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*[۱۰] و *باسیلوس سرئوس* بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه عصاره آبی آلوئه‌ورا

برگ‌های تازه و سبز آلوئه‌ورا از بازار محلی شهر ملاثانی خریداری شد. آزمون‌های این مطالعه در آزمایشگاه‌های گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. برای جداسازی مایع غلیظ و تلخ زرد رنگ بین فیله و روکش‌های برگ[۱۱] ، پس از شست‌وشوی برگ‌ها به‌کمک یک برس و آبکشی نهایی توسط آب مقطر، سر و پایه برگ‌ها جدا شده و به‌مدت یک ساعت به‌صورت عمودی درون بشر حاوی آب مقطر قرار گرفتند. بعد از این مدت، با جداسازی تیغه‌های کناری و یک لایه از روکش سبز، فیله بی‌رنگ و آبدار درونی توسط یک قاشق استخراج شد. فیله استخراج شده به‌مدت ۳ دقیقه درون بلندر خانگی مخلوط و

3- *Escherichia coli*
4 - *Staphylococcus aureus*
5 - *Bacillus cereus*
6 -Minimum inhibitory concentration (MIC)
7- Minimum bactericidal concentration (MBC)
8- *Shigella dysenteriae*
9 - *Salmonella typhi*
10 -*Listeria monocytogenes*
11- Latex

موسیلاژی هموژن حاصل شد که با عبور و فیلتر این موسیلاژ از پارچه موسلین، عصاره تازه آلوئه‌ورا به‌دست آمد [١٤].

۲-۲- آزمون‌های شیمیایی

۲-۲-۱- تعیین فنل کل[12] عصاره آبی آلوئه‌ورا

میزان فنل تام عصاره آلوئه‌ورا به روش رنگ سنجی فولین-سیوکالتیو و اندازه‌گیری برحسب گالیک اسید انجام شد. منحنی استاندارد گالیک اسید با استفاده از غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گالیک‌اسید رسم شد. برای تعیین میزان فنل تام، مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره با غلظت معین با ۲/۵ میلی‌لیتر از فولین-سیوکالتیو ۱۰٪ مخلوط شد و پس از گذشت ٦ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر سدیم‌کربنات ۷/۵٪ به آن اضافه و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در یک مکان تاریک نگهداری شد. درنهایت جذب محلول در طول موج ۷٦۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر WPA (Biowave II، ساخت کشور انگلیس) خوانده شد. جذب به‌دست آمده از محلول عصاره در رابطه‌ای که از نمودار استاندارد گالیک اسید به‌دست آمد، جایگذاری و میزان ترکیبات کل فنل موجود در عصاره محاسبه شد [۱۵].

۲-۲-۲- تعیین فلاونوئید کل[13] عصاره آلوئه‌ورا

تعیین فلاونوئید کل عصاره آلوئه‌ورا به روش رنگ‌سنجی با آلومونیوم کلراید و برحسب کوئرستین به‌عنوان استاندارد انجام گرفت. ابتدا ۱ میلی‌لیتر از عصاره آلوئه‌ورا با غلظت معین به مقدار ۷۵ میکرولیتر از نیتریت سدیم ۵٪ اضافه و هم‌زده شد. پس از گذشت مدت زمان ٦ دقیقه، ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۱۰٪ به محلول اضافه و ۵ دقیقه دیگر در دمای اتاق نگهداری شد. در آخر ۱ میلی‌لیتر از سدیم هیدروکسید ۱ مولار افزوده و پس از گذشت یک دقیقه جذب محلول در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. میزان فلاونوئید تام عصاره به‌کمک رابطه منحنی استاندارد کوئرستین به‌دست آمد [١٦].

۲-۲-۳- مهار رادیکال آزاد ۲، ۲- دی فنیل-۱- پریکیل هیدرازیل[14]

تعیین کمی فعالیت مهاری رادیکال آزاد (DPPH) با اندکی تغییر از طریق روش حجتی و همکاران [۱۷] انجام گرفت. غلظت‌های مختلف عصاره (٦۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ٤۰۰، ٦۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه و در لوله‌های آزمایش ریخته و با نسبت ۱:۱ با محلول ۰/۱ میلی‌مولار DPPH که با متانول آماده شده بود، در لوله‌ها مخلوط شدند. پس از گذشت زمان ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی و دمای اتاق، جذب محلول‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی-فرابنفش گرفته شد. محلول کنترل، نمونه بدون عصاره بود و دستگاه با متانول صفر شد. درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد توسط عصاره از طریق معادله ۱ تعیین شد که $A_{Control}$: جذب محلول متانولی DPPH بدون اسانس و A_{sample}: جذب محلول متانولی DPPH در واکنش با غلظت خاصی از عصاره می‌باشد.

معادله ۱: تعیین درصد مهار رادیکال‌های آزاد

$$RSE^{15}\% = [(A_{Control} - A_{sample})/ A_{Control}] \times 100$$

۲-۲-٤- مهار رادیکال آزاد ۲، ۲- آزینو بیس- ۳- اتیل بنزو تیازولین- ٦- سولفونیک اسید[16]

تعیین فعالیت مهارکنندگی در برابر رادیکال آزاد ($ABTS^{+}$) از روش کاپاراکو و همکاران [۱۸] با اندکی تغییر انجام شد. ابتدا محلول ۷ میلی‌مولار از رادیکال آزاد تهیه شد سپس با محلول ۲/٤۵ میلی‌مولار پتاسیم پرسولفات مخلوط و به‌مدت ۱٦ ساعت در تاریکی انکوبه شد. پس از گذشت این مدت زمان، محلول به‌دست آمده تاجایی با متانول رقیق شد که به جذب ۰/۰۲ ± ۰/۷ در طول موج ۷۳٤ نانومتر برسد. محلول کاتیونی رقیق شده (محلول کنترل) سپس به نسبت ۱:۱ با غلظت‌های (٦۰، ۸۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ٤۰۰، ٦۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از عصاره مخلوط و پس از ٦ دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۳٤ و در دمای ۳۰ درجه‌سانتی‌گراد (دمای اتاق) قرائت شد.

12 - Total phenolic content
13- Total flavonoid content
14 -2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
15 - Radical Scavenging Effect
16- 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), (ABTS)

درصد مهار این رادیکال توسط عصاره از معادله ۱ به‌دست آمد که در این معادله $A_{Control}$: جذب محلول متانولی ABTS بدون اسانس و A_{sample}: جذب محلول متانولی ABTS در واکنش با غلظت خاصی از عصاره می‌باشد.

۲-۳- فعالیت ضدمیکروبی عصاره آلوئه‌ورا

از روش‌های دیسک دیفیوژن، چاهک در آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برای ارزیابی اثر ضدمیکروبی عصاره آبی به‌دست آمده از برگ آلوئه‌ورا در برابر ٦ باکتری پاتوژن، که شامل *اشرشیا کلی* ATCC ١٢٤٣٥، *شیگلا دیسانتری* ATCC ١٣٣١٣، *سالمونلا تیفی* ATCC ٦٥١٥٤ (باکتری‌های گرم منفی)، *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC ١٤١٥٤، *لیستریا مونوسیتوژنز* ATCC ١٩١١٥ و *باسیلوس سرئوس* ATCC ١٠٨٧٦ (باکتری‌های گرم مثبت) استفاده شد.

۲-۳-۱- تهیه سوسپانسیون میکروبی

کشت تازه از سویه‌های موردنظر ٢٤ ساعت قبل از انجام آزمایشات بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار به‌دست آمد. سوسپانسیون از کلنی خالص باکتری‌ها براساس کدورت نیم‌مک‌فارلند (1.5×10^8 CFU /mL) آماده شدند. برای تهیه سوسپانسیون با این کدورت پس از برداشتن مقداری از کلنی باکتری‌ها با استفاده از لوپ، آن به سرم فیزیولوژی درون لوله‌های آزمایش اضافه کرده و با شیکر هم زدیم. کدورت سوسپانسیون‌ها باید در طول موج ٦٢٥ نانومتر جذبی بین ۰/۰۸ تا ۰/۱۳ نشان دهد [۱۹].

۲-۳-۲- فعالیت ضدمیکروبی عصاره آلوئه‌ورا به روش دیسک دیفیوژن

عصاره آبی آلوئه‌ورا ابتدا از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرون عبور داده و استریل شد. سپس ۲۰ میکرولیتر از عصاره استریل به دیسک‌های بلانک انتقال داده شد. یک دیسک بلانک (به‌عنوان شاهد منفی) با فاصله مشخص از دیواره و همدیگر روی محیط کشت مولر هینتون آگار حاوی سوسپانسیون باکتری‌ها (استاندارد نیم مک‌فارلند) قرار گرفتند. محیط‌های کشت به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای یخچال قرار گرفته و سپس به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفتند. فعالیت ضدباکتریایی عصاره با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد باکتری دور دیسک بر حسب میلی‌متر، بررسی شد [۲۰].

۲-۳-۳- فعالیت ضدمیکروبی به روش چاهک در آگار

در این روش، روی محیط کشت مولر هینتون اگار مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی آماده شده به روش کشت سطحی تلقیح شد. پس از آماده‌سازی چاهک‌ها و بستن ته چاهک به‌کمک محیط‌کشت مذاب، مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره خالص درون چاهک ریخته و یک چاهک حاوی آب مقطر به‌عنوان شاهد درنظر گرفته‌شد. پس از گرمخانه‌گذاری پلیت‌های دارای چاهک در دمای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد به‌مدت ٢٤ ساعت، قطر هاله بازدارنده از رشد باکتری با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و براساس میلی‌متر ثبت شدند [۲۱].

۲-۳-٤- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آلوئه‌ورا

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آلوئه‌ورا علیه باکتری‌های موردنظر، ابتدا غلظت۵۱۲ از عصاره و محیط مولر هینتون براث[17] به‌همراه ۵ میلی‌لیتر DMSO (دی متیل سولفوکساید) تهیه شد سپس رقت‌های متوالی با افزودن ۵ میلی‌لیتر از رقت قبلی به ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مولر هینتون براث آماده شدند. از رقت‌های آماده‌شده مقدار ۱۰۰ میکرولیتر با سمپلر برداشته و به درون خانه‌های پلیت ۹٦ خانه انتقال داده شد. سپس به هر خانه میزان ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های میکروبی اضافه شد. برای هر باکتری، کنترل مثبت (رقت تهیه شده از عصاره با محیط کشت) و کنترل منفی (محیط کشت به‌همراه سوسپانسیون باکتری) در نظر گرفته شد. پس از ٢٤ ساعت ماندن در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد، مقدار ۲۰ میکرولیتر معرف رنگی تری فنیل تترازولیم کلراید[18] (۵ درصد) به خانه‌های پلیت ۹٦ خانه اضافه و برای تعیین حداقل غلظت، دوباره به مدت ۳۰ دقیقه به انکوباتور منتقل شد. بر اساس اضافه شدن این معرف، مشاهده رنگ قرمز نشان‌دهنده رشد باکتری بود که اولین

17-Müller-Hinton broth

18 -Triphenyltetrazolium chloride

خانه‌ای که در آن رنگ قرمز پدیدار نشد، به‌عنوان کمترین غلظت بازدارنده از رشد باکتری‌ها ثبت شد [۲۲].

۲-۳-۵- تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره آلوئه‌ورا

برای تعیین حداقل غلظتی از عصاره که خاصیت کشندگی بر باکتری‌های مورد نظر را اعمال می‌کند؛ از هر چاهک پلیت ۹٦ خانه‌ای که تغییر رنگی دیده نشد میزان ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و بر محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. پس از گرم‌خانه‌گذاری به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌سانتی‌گراد، غلظتی از عصاره که کلنی‌های باکتری در آن مشاهده نشد به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی ثبت شد [۲۳].

۲-٤- آنالیز آماری داده‌ها

تمامی آزمون‌ها با سه تکرار انجام گرفت. برای مقایسه بین میانگین داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way) ANOVA با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲٦) استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ارزیابی ترکیبات و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی آلوئه‌ورا

برگ گیاهان خوراکی حاوی مقادیر زیاد ترکیبات فعال زیستی مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی هستند که از آن‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی یاد می‌شود [۲٤ و ۲۵]. ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی (فیتوکمیکال‌ها) از طریق واکنش با رادیکال‌های آزاد با مکانیسم‌های مختلفی موجب مهار آن‌ها می‌شوند. در نتیجه با بالا بودن میزان این ترکیبات زیست‌فعال، می‌توان به قدرت آنتی‌اکسیدانی بالاتری دست یافت. در مطالعه حاضر، مقدار فنل تام ۰/۷۸ ± ٤۱/٦۱ میلی‌گرم گالیک‌اسید در هر گرم عصاره[19] و مقدار فلاونوئید تام ۵/۱۳ ± ۷۸۳/۳۳ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره[20] آبی آلوئه‌ورا به‌دست آمد. کومار و همکاران به بررسی فیتوکمیکال‌ها و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی برگ‌های آلوئه‌ورا به‌دست آمده توسط پژوهشگران مختلف پرداختند. مقدار فنل تام گزارش شده از ٦۳/۲ تا ۳۲/۹ میلی‌گرم گالیک‌اسید در گرم عصاره متغیر بود. در همه مطالعات وجود ترکیبات فنلی عصاره در مقادیر قابل‌توجهی ثبت شد. همچنین در این مطالعه و مطالعات قبلی به‌این نتیجه رسیدند که میان محتوای فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی یک رابطه خطی معنادار وجود دارد [۲٦ و ۲۷]. شارما و همکاران محتوای فنلی و فلاونوئیدی کل دو عصاره آبی و متانولی برگ آلوئه‌ورا را باهم مقایسه کردند که براساس نتایج گزارش‌شده از این پژوهش، مقدار این دو ترکیب در عصاره‌های مختلف تفاوت قابل‌توجهی نداشتند [۲۸]. بیستا و همکاران نیز مقدار فنل و فلاونوئید تام عصاره‌های متانولی و اتانولی برگ آلوئه‌ورا را باهم مقایسه کردند که نتایج نشان داد مقدار این ترکیبات در عصاره متانولی بالاتر و برابر با ۳۰/۵۳ میلی‌گرم گالیک‌اسید و ۷۳/۲٦ میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم وزن خشک عصاره بود. بر اساس مطالعات متعدد، میزان فلاونوئید در تمامی عصاره‌های برگ آلوئه‌ورا از میزان فنل کل بالاتر بود. تفاوت در مقادیر به‌دست آمده در مطالعات مختلف می‌تواند به‌دلایل مختلفی چون شرایط محیط رشد گیاه، زمان برداشت، مکان جغرافیایی، روش‌های مختلف و حلال‌های متفاوت در استخراج عصاره، غلظت مورد استفاده در آزمون و همچنین منحنی‌های استاندارد مختلف باشد. با همه این تفاوت‌ها، براساس چندین مطالعه، میزان ترکیبات شیمیایی زیست‌فعال معمولا در عصاره آبی بیشتر از بقیه عصاره‌ها تعیین شد [۲۹ و ۳۰].

قدرت مهار رادیکال آزاد درواقع توانایی خنثی سازی رادیکال آزاد از طریق دادن یک الکترون به آن و جلوگیری از واکنش و استرس اکسیداتیو است که باعث می‌شود با ترکیب الکترون و مهار رادیکال و رسیدن آن به حالت پایدارتر، رنگ محلول کمتر شده و جذب آن در طول‌موج مشخص ضعیف‌تر شود [۳۱ و ۳۲]. نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دو روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS در جدول ۱ آورده‌شده‌است. براساس نتایج مشاهده‌شده، میزان قدرت عصاره آبی آلوئه‌ورا در مهار رادیکال آزاد (DPPH) بیشتر از رادیکال آزاد ($ABTS^{+}$) بود.

19 - mg GAE/g extract

20 -mg QE/g extract

بیشترین درصد مهاری DPPH، مربوط به غلظت ٦٠٠ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر معادل ٦٨/٣٩ درصد و کمترین قدرت مهاری برای غلظت ٦٠ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره برابر با ٣٦/٣٥ درصد مشخص شد. قدرت مهاری همین غلظت‌ها برای رادیکال آزاد ABTS به‌ترتیب برابر با ٥٠/٠٧ درصد و ٤١/٦٤ درصد بود. باتوجه به نتایج جدول ١ با افزایش تدریجی غلظت عصاره از ٦٠ تا ٦٠٠ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، افزایش قدرت مهاری قابل‌توجهی (بیش از ٣٠ درصد) برای DPPH مشاهده شد ولی با افزایش غلظت به همین نسبت، میزان مهار رادیکال ABTS روند افزایشی کندتری (کمتر از ١٠ درصد) را نشان داد. بااین‌حال در هر دو روش، غلظت عصاره با درصد مهاری رابطه مستقیم داشته و اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها بود. مانیه و همکاران قدرت عصاره‌های آبی و متانولی آلوئه‌ورا را در مهار رادیکال آزاد DPPH تعیین و مقایسه کردند. باتوجه به گزارش داده‌شده، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی به‌طور معنی‌داری بالاتر از عصاره متانولی بود. درصد مهار رادیکال DPPH برای عصاره آبی در محدوده ٦٥/٤–٣٤/٨ درصد و برای عصاره متانولی در محدوده ٤٨/١–١٥/٤ درصد گزارش شد [١٣]. مطالعه بیستا و همکاران نشان داد که درصد اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره آلوئه‌ورا به‌روش DPPH برای عصاره متانولی برابر با ٨١/٩١ درصد بود که بالاتر از قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی در این پژوهش و خلاف مطالعات سابق در قوی‌تر بودن عصاره آبی است [٢٩]. اثر آنتی‌اکسیدانی آلوئه‌ورا ناشی از ترکیبات زیست‌فعال (پلی‌فنل‌ها، آنزیم‌ها، پلی‌ساکاریدها و آنتراکینون‌ها) موجود در آن می‌باشد. آسه‌مانان[21] پلی‌ساکارید ذخیره‌ای و ترکیب زیست‌فعال اولیه و مهم آلوئه‌ورا است که نقش مهمی در مهار رادیکال آزاد ABTS ایفا می‌کند [٣٣]. کاپاراکو و همکاران [١٨] فعالیت انتی‌اکسیدانی ژل آلوئه‌ورا را بررسی و به‌صورت کمی گزارش کردند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی DPPH از ١/٦٤ تا ٩/٢١ میکرومول ترولوکس در هر میلی‌لیتر[22] از ژل و برای ABTS، معادل ٠/٧٣ تا ٥/١٤ میکرومول ترولوکس در هر میلی‌لیتر از ژل برآورد شد. براساس نتایج میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش ABTS ضعیف‌تر از DPPH بود که مطابق با نتایج مطالعه حاضر است.

Table 1. DPPH and ABTS radical scavenging activity of *Aloe vera* extract

Concentration (mg/mL)	Scavenging effect (%)	
	DPPH	ABTS
60	36.35 ± 0.40^{A}	41.64 ± 0.13^{A}
80	45.01 ± 0.30^{B}	42.61 ± 0.36^{B}
100	61.18 ± 0.12^{C}	43.67 ± 0.15^{C}
200	63.67 ± 0.24^{D}	44.29 ± 0.21^{D}
400	64.77 ± 0.55^{E}	47.95 ± 0.59^{E}
600	68.39 ± 0.44^{F}	50.07 ± 0.18^{F}

The data written in table, indicate "mean ± standard deviation", n=3. The capital English letters in each column show a significant difference at $P< 0.05$ between antioxidant activity of different extract concentrations.

٣-٢- بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی آلوئه‌ورا

فعالیت ضدمیکروبی ژل آلوئه‌ورا در مطالعات متعددی تاکنون بررسی شده‌است. این عصاره دارای خاصیت مهارکنندگی از رشد یا قابلیت کشندگی برخی باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها را دارد. پژوهش‌هایی در گذشته قدرت ضدمیکروبی عصاره را بر بسیاری از قارچ‌ها ارزیابی کرده و به نتایج مطلوبی رسیده‌اند [٣٤ و ٣٥]. روش انتشار در آگار به‌کمک دیسک که به روش کربی–بائر نیز معروف است، یکی از انعطاف‌پذیرترین روش‌های تعیین حساسیت میکروب‌ها به عوامل بازدارنده است که قدرت ضدمیکروبی

21- Acemannan

22 -µmol Trolox /mL

ماده براساس اندازه‌گیری هاله عدم رشد میکروب دور دیسک‌ها ارزیابی می‌شود [۳٦]. روش انتشار به‌کمک چاهک آگار بیشتر برای ارزیابی اثر ضدمیکروب گیاهان و یا عصاره‌های میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این روش مشابه دیسک دیفیوژن است با این تفاوت که به‌جای استفاده از دیسک، چاهک‌هایی در آگار آماده خواهد شد [۳۷]. براساس این دو روش،

نتایج فعالیت ضدمیکروبی عصاره خالص در جدول ۲ و ۳ گزارش شد. جدول ۲ ، قطر هاله مهارکننده از رشد باکتری‌ها را دور دیسک حاوی عصاره نشان می‌دهد که بیشترین قطر هاله مربوط به باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* با قطر ۱۵/٤۰ میلی‌متر و کم‌ترین قطر هاله مربوط به باکتری گرم منفی *شیگلا دیسانتری* با قطر ۹/۲۰ میلی‌متر می‌باشد. میان گرم مثبت‌ها، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* به‌طور معناداری بالاترین قطر را داشتند و باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* پس از آن‌ها کمترین مقاومت را نسبت به عصاره داشت. میان گرم منفی‌ها، *سالمونلا تیفی* به‌عنوان مقاوم‌ترین باکتری به عامل ضدمیکروبی مشخص شد.

Table 2. Inhibition zone (mm) of *Aloe vera* extract on bacterial growth using disk diffusion agar method

Inhibition zone (mm)	Pathogenic bacteria					
	E. coli	***S. dysenteriae***	***S. typhi***	***S. aureus***	***L. monocytogenes***	***B. cereus***
Aloe vera	10.10 ± 0.30^{A}	9.20 ± 0.40^{A}	12.00 ± 0.50^{B}	15.40 ± 0.20^{C}	13.30 ± 0.80^{B}	15.00 ± 0.60^{C}

The data written are "mean ± standard deviation", n=3. Similar capital letters show a significant difference at P< 0.05 between antimicrobial activity on different pathogens.

جدول ۳، نتایج مربوط به خاصیت ضدمیکروبی عصاره را بر باکتری‌های مورداستفاده براساس روش انتشار در چاهک نشان می‌دهد. در این روش بیشترین قطر هاله مربوط به باکتری *باسیلوس سرئوس* گرم مثبت (۱٦/۲۰ میلی‌متر) و کم‌ترین قطر مشابه با روش دیسک دیفیوژن مربوط به باکتری *شیگلا دیسانتری* گرم منفی (۱۰/۰۰ میلی‌متر) بود. اثر بازدارندگی رشد بر دو پاتوژن *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* به‌طور معناداری نزدیک به هم و بیشتر از بقیه مشاهده شد. در هر دو روش دیسک دیفیوژن و چاهک آگار، اثر ضدباکتریایی عصاره بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی بود ولی قطر هاله‌ها در روش چاهک آگار کمی بیشتر از روش دیسک دیفیوژن مشاهده شد.

Table 3. Inhibition zone (mm) of *Aloe vera* extract on bacterial growth using well diffusion agar method

Inhibition zone (mm)	Pathogenic bacteria					
	E. coli	***S. dysenteriae***	***S. typhi***	***S. aureus***	***L. monocytogenes***	***B. cereus***
Aloe vera	11.30 ± 0.60^{A}	10.00 ± 0.30^{B}	12.050 ± 0.40^{C}	16.10 ± 0.50^{D}	13.90 ± 0.50^{E}	16.20 ± 0.20^{D}

The data written are "mean ± standard deviation", n=3. Similar capital letters in the data row, show a significant difference at P< 0.05 between antimicrobial activity on different pathogens.

دنیش و همکاران نتایجی متفاوت با نتایج پژوهش حاضر را بیان کردند. بر اساس گزارش آن‌ها درمورد اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی برگ آلوئه‌ورا بود، این عصاره قطر هاله بازدارندگی معادل ۱۸ میلی‌متر دربرابر باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* در غلظت ۳۰ میکرولیتر نشان داد؛ همچنین هاله

به‌دست آمده دربرابر باکتری‌های گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* که عصاره آبی بالاترین اثر را بر آن‌ها داشت مقادیری برابر با به‌ترتیب ۱۳ و ۱٤ میلی‌متر بود. این مقادیر با جدول ۳ و ٤ مغایرت داشت ولی درکل باتوجه به داده‌های گزارش‌شده در هر دو اثر می‌توان گفت اثر ضدمیکروبی عصاره آبی و اتانولی برگ آلوئه‌ورا بر گرم‌مثبت‌ها بیشتر است. درواقع اثر ضدمیکروبی عصاره آبی آلوئه‌ورا بر سه باکتری ذکر شده، کم‌تر از عصاره اتانولی برگ این گیاه است [۱۲]. بندجدید و همکاران اثر ضدباکتریایی عصاره آلوئه‌ورا را با ۵ حلال مختلف در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بررسی کرده و بیشترین اثرضدمیکروبی را مربوط به عصاره ان–بوتانول[۲۳] و استونی آلوئه‌ورا (به‌ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۲۵/۳۳ و ۲۲ میلی‌متر نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*) گزارش کردند. عصاره آبی مورداستفاده در این پژوهش تنها در برابر باکتری *اشرشیا کلی* هاله عدم رشد (۱۰/۳۳ میلی‌متر) نشان داد [۲۰]. در مطالعه دیگری که برروش اثر ضدمیکروبی عصاره آبی آلوئه‌ورا بر باکتری‌های گرم منفی انجام شد، قطر هاله عدم رشد باکتری *اشرشیا کلی* برابر با ۱۸ میلی‌متر گزارش شد. در همین مطالعه، MIC و MBC این باکتری در برابر عصاره آبی آلوئه‌ورا بررسی و به‌ترتیب (۰/٦۲۵ و ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) گزارش شد. نتایج ضدمیکروبی به‌شدت به غلظت به‌کار رفته بستگی دارد. در برخی موارد حتی غلظت‌های بالاتر از عصاره می‌تواند نتایج کم‌تری نسبت به غلظت‌های پایین‌تر از خود نشان دهد [۳۸].

کم‌ترین غلظتی که باعث بازدارندگی از رشد باکتری‌ها می‌شود (MIC) و کم‌ترین غلظتی که موجب مرگ باکتری خواهد شد (MBC) ارزیابی و در جدول ٤ گزارش شد.

Table 4. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of *Aloe vera* extract

Pathogenic bacteria	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
E. coli	32	>512
S. dysenteriae	64	>512
S. typhi	32	512
S. aureus	16	256
L. monocytogenes	32	512
B. cereus	16	256

برای تعیین این دو معیار، ابتدا غلظت‌های مختلف عصاره از روش رقت‌سازی متوالی انجام‌گرفت. رقت‌های متوالی (۵۱۲، ۲۵٦، ۱۲۸، ٦٤، ۳۲، ۱٦، ۸، ٤، ۲ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از عصاره تهیه شد. باتوجه به نتایج به‌دست آمده پایین‌ترین غلظتی از عصاره که توانست از رشد میکروارگانیسم جلوگیری کند، ۱٦ میلی‌لیتربرمیلی‌گرم در برابر باکتری گرم مثبت *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکس اورئوس* بود. بالاترین درصد از عصاره که توانایی مهار رشد را داشت، ٦٤ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در برابر باکتری گرم منفی *شیگلا دیسانتری* بود. بیش‌ترین به کم‌ترین اثر ضدمیکروبی عصاره بر باکتری‌ها به‌ترتیب حداقل غلظت بازدارندگی، *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*>*لیستریا مونوسیتوژنز*، *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی*>*شیگلا دیسانتری* مشخص شد. کم‌ترین غلظت کشندگی عصاره بر باکتری‌ها در جدول ٤ آورده شده است. MBC دو باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* و *شیگلا دیسانتری* بزرگتر از ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود ولی باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* در غلظت ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از عصاره از بین رفت. دو باکتری گرم مثبت

23- n-butanol

استافیلوکوکوس اورئوس و *باسیلوس سرئوس* در غلظت پایین‌تری از عصاره MBC داشتند که نشان‌دهنده اثر ضدمیکروبی بالاتر عصاره بر این دو باکتری است. و در نهایت باکتری گرم مثبت *لیستریا مونوسیتوژنز* دارای MBC در غلظت ۵۱۲ عصاره بود. به‌طور کلی می‌توان گفت که عصاره آبی آلوئه‌ورا اثر ضدمیکروبی بالاتری بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی‌ها داشت. عوامل ضدمیکروبی مختلف، با هدف قرار دادن قسمت‌های مختلف غشای باکتری‌ها موجب مهار و یا کشندگی می‌شوند. درواقع می‌توان با استناد بر تفاوت ساختار غشای باکتری‌های گرم مثبت و منفی، مقاومت بالاتر گرم منفی‌ها را در برابر این عصاره توجیح کرد [۳۹، ٤۰ و ٤۱]. ارباب و همکاران نیز به بررسی فعالیت ضدمیکروبی عصاره ژل آلوئه‌ورا بر باکتری‌های دخیل در عفونت‌های پوستی (*اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا* و *سالمونلا*) پرداختند که ژل فعالیت بالایی نشان داد به‌طوری که نتایج بر روی ٤ سویه بسیار نزدیک به هم بود. در این پژوهش نیز اثر عصاره اتانولی بر روی پاتوژن‌ها بیشتر مشخص شد [٤۲]. فعالیت ضدمیکروبی ژل آلوئه‌ورا بر روی دو پاتوژن *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* توسط محبی و همکاران مورد بررسی قرار گرفت؛ هرچند این ماده در غلظت‌های پایین‌تری (به‌ترتیب ۲ و ۸ میلی‌گرم‌برمیلی‌لیتر) قادر به مهار رشد باکتری‌های نام‌برده بود. آلوئه‌ورا در این مطالعه در همان غلظت مهاری (۸ میلی‌گرم‌برمیلی‌لیتر) توانست اثر کشندگی بر روی باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* داشته باشد [٤۳].

٤- نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر، میزان فنل کل و فلاونوئید عصاره آبی برگ آلوئه‌ورا به‌دست آمد. براساس نتایج به‌دست آمده، این عصاره پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالایی داشته و فعالیت ضدمیکروبی مناسبی در برابر ٦ پاتوژن منتخب از خود نشان داد. درصد مهار کاتیون DPPH توسط این عصاره در غلظت‌های یکسان، بالاتر از ABTS مشاهده شد. همچنین اثر ضدمیکروبی عصاره آبی آلوئه‌ورا بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از گرم منفی‌ها گزارش شد. درکل می‌توان از پتانسیل این عصاره به‌عنوان یک نگهدارنده طبیعی در صنعت غذا بهره برد.

۵- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

٦-منابع

[1] Veiga, M., Costa, E. M., Silva, S., & Pintado, M. (2020). Impact of plant extracts upon human health: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(5), 873-886.

[2] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani., B., Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of *Mentha pulegium* essential oil and its application in *Ocimum basilicum* seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4°C). *Food Science & Nutrition*, *9*(10), 5600-5615.

[3] Olszewska, M. A., Gędas, A., & Simões, M. (2020). Antimicrobial polyphenol-rich extracts: Applications and limitations in the food industry. *Food Research International*, *134*, 109214.

[4] Kolawole, F. O., Kolawole, S. K., Owa, F. A., Adebayo, A. O., Ajibola, O. O., & Hassan, S. B. (2023). Chapter 22 - Green nanomaterials and their anticorrosive properties. pp. 453-477 In C. Verma, V. Srivastava, T. W. Quadri, C. Mustansar Hussain, & E. E. Ebenso Eds. *Smart Anticorrosive Materials*: Elsevier.

[5] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., Ghodsi Sheikhjan, M. (2021). Utilization of plantago major seed mucilage containing citrus limon essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions. *Food Science & Nutrition*. *9*(3):1625-1639.

[6] Chaves, N., Santiago, A., & Alías, J. C. (2020). Quantification of the Antioxidant Activity of Plant Extracts: Analysis of Sensitivity and Hierarchization Based on the Method Used. *Antioxidants*, *9*(1). 76.

[7] Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021). Towards Advances in Medicinal Plant Antimicrobial Activity: A Review Study on Challenges and Future Perspectives. *Microorganisms, 9*(10). 2041.

[8] Zanganeh, H., Mortazavi, S., Shahidi, F., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Evaluation of the chemical and antibacterial properties of Citrus paradise essential oil and its application in *Lallemantia iberica* seed mucilage edible coating to improve the physicochemical, microbiological and sensory properties of lamb during refrigerated storage. *Journal of Food Measurement and Characterization, 15*(1), 1-16.

[9] Sánchez, M., González-Burgos, E., Iglesias, I., & Gómez-Serranillos, M. P. (2020). Pharmacological Update Properties of Aloe Vera and its Major Active Constituents. *Molecules, 25*(6). 1324.

[10] Nicolau-Lapeña, I., Colàs-Medà, P., Alegre, I., Aguiló-Aguayo, I., Muranyi, P., & Viñas, I. (2021). Aloe vera gel: An update on its use as a functional edible coating to preserve fruits and vegetables. *Progress in Organic Coatings, 151*, 106007.

[11] Sonawane, S. K., Gokhale, J. S., Mulla, M. Z., Kandu, V. R., & Patil, S. (2021). A comprehensive overview of functional and rheological properties of aloe vera and its application in foods. *Journal of Food Science and Technology, 58*(4), 1217-1226.

[12] Danish, P., Ali, Q., Hafeez, M., & Malik, A. (2020). ANTIFUNGAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ALOE VERA PLANT EXTRACT. *Biological and Clinical Sciences Research Journal, 2020*(1).

[13] Manye, S. J., Saleh, J. S., Ishaya, H. B., Chiroma, S. M., Attah, M. O. O., & Dibal, N. I. (2023). Phytochemical screening and in-vitro antioxidant activities of aqueous and methanol extracts of Aloe vera. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine, 8*, 100291.

[14] Maan, A. A., Reiad Ahmed, Z. F., Iqbal Khan, M. K., Riaz, A., & Nazir, A. (2021). Aloe vera gel, an excellent base material for edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology, 116*, 329-341.

[15] Ghazanfari, N., Mortazavi, S. A., Yazdi, F. T., & Mohammadi, M. (2020). Microwave-assisted hydrodistillation extraction of essential oil from coriander seeds and evaluation of their composition, antioxidant and antimicrobial activity. *Heliyon, 6*(9), 2405-8440.

[16] Ebrahimi Hemmati Kaykha, M., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2022). Identification of chemical compounds, antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents and cytotoxicity effect of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal. 18*(4), 467-482.

[17] Kiarsi, Z., Hojjati, M., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). In vitro antimicrobial effects of *Myristica fragrans* essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage. *Journal of Food Safety, 40*(3), e12782.

[18] Kaparakou, E. H., Kanakis, C, D., Gerogianni, M., Maniati, M., Vekrellis, K., Skotti, E., & Tarantilis, P. A. (2021). Quantitative determination of aloin, antioxidant activity, and toxicity of Aloe vera leaf gel products from Greece. *Journal of the Science of Food and Agriculture. 101*(2). 414-423.

[19] Sureshjani, M. H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Behbahani, B. A., & Shahidi, F. (2014). Antimicrobial effects of *Kelussia odoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences, 5*(2), 115-120.

[20] Bendjedid, S., Lekmine, S., Tadjine, A., Djelloul, R., & Bensouici, C. (2021). Analysis of phytochemical constituents, antibacterial, antioxidant, photoprotective activities and cytotoxic effect of leaves extracts and fractions of *Aloe vera*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 33*, 101991.

[21] Hojjati, M., Omidi-Mirzaei, M., & Kiarsi, Z. (2020). Evaluation of chemical constituents and antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of two citrus species. *FSCT. 17*(100), 127-138.

[22] Omidi Mirzaei, M., Hojjati, M. Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). Determination of chemical composition, antioxidant properties and antimicrobial activity of coriander seed essential oil on a number of pathogenic microorganisms. *Iranian Food Science and Technology Research Journal. 16*(2), 221-233.

[23] Safari, E., Barzegar, H., Jooyande, H., & Alizadeh Behbahani, B. (2023). Identification of Functional Groups, Total Phenol and Flavonoids Contents, Antioxidant Potential and Antimicrobial Activity of Black Pepper (Piper nigrum L.) Aqueous Extract and Its Interactions with Chloramphenicol and Amphotericin B. *Iranian Food Science and Technology Research Journal. 19*(1), 79-93.

[24] Wojdyło, A., & Oszmiański, J. (2020). Antioxidant Activity Modulated by Polyphenol Contents in Apple and Leaves during Fruit Development and Ripening. *Antioxidants, 9*(7), 567.

[25] Zeb, A. (2021). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. *J Food Biochem. 44*(9), e13394.

[26] Kumar, S., Yadav, A., Yadav, M., & Yadav, J. P. (2017). Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of *Aloe vera* (L.) *Burm.f. BMC Research Notes, 10*(1), 60.

[27] Heydari, S., Jooyandeh, H., Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing

lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, *8*(12), 6497-6512.

[28] Sharma, S., Verma, O., Devi, L., & Kumar, R. (2021). ANTIOXIDANT ACTIVITY, TOTAL PHENOLIC AND FLAVONOID CONTENTS OF ALOE VERA LEAVES EXTRACT. *Journal of Phytological Research. 34*(1), 49.

[29] Bista, R., Ghimire, A., & Subedi, S. (2020). Phytochemicals and Antioxidant Activities of Aloe Vera (*Aloe Barbadensis). J Nut Sci Heal Diet 1*(1): 25-36.

[30] Yeganegi, M., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., Asili, J., Behbahani, B.A. and Beigbabaei, A. (2018). *Equisetum telmateia* extracts: Chemical compositions, antioxidant activity and antimicrobial effect on the growth of some pathogenic strain causing poisoning and infection. *Microbial pathogenesis, 116*, pp.62-67.

[31] Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R.P., & Chang, C.M. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis *of Ficus religiosa. Molecules.27*(4):1326.

[32] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A., & Tabatabaee Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food Science & Nutrition, 9*(5), 2458-2467.

[33] Comas-Serra, F., Estrada, P., Minjares-Fuentes, R., & Femenia, A. (2023). Evaluation of Acemannan in Different Commercial Beverages Containing Aloe Vera (*Aloe barbadensis* Miller) Gel. *Gels, 9*(7).

[34] Kahramanoğlu, İ., Chen, C., Chen, J., & Wan, C. (2019). Chemical Constituents, Antimicrobial Activity, and Food Preservative Characteristics of Aloe vera Gel. *Agronomy, 9*(12). 831.

[35] Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". *International Journal of Agronomy and Plant Production, 4*(7), 1652-1658.

[36] Tenover, F. C. (2019). Antimicrobial Susceptibility Testing. In T. M. Schmidt (Ed.), Encyclopedia of Microbiology (Fourth Edition) (pp. 166-175). Oxford: Academic Press.

[37] Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: *A review. J Pharm Anal. 6*(2):71-79.

[38] Arsene, M. M. J., P. I. Viktorovna, G. V. Sergei, F. Hajjar, Y. N. Vyacheslavovna, Z. A. Vladimirovna, V. E. Aleksandrovna, S. A. Nikolayevich & N. Sachivkina (2022). Phytochemical Analysis, Antibacterial and Antibiofilm Activities of Aloe vera Aqueous Extract against Selected Resistant Gram-Negative Bacteria Involved in Urinary Tract Infections. *Fermentation, 8*(11), 626.

[39] Epand, R. M., Walker, C., Epand, R. F., & Magarvey, N. A. (2016). Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, 1858*(5), 980-987.

[40] Tabatabaei Yazdi, F., & Alizadeh Behbahani, B. (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Teucrium polium* L. extracts on gram positive and gram negative bacteria “in vitro”. *Archives of Advances in Biosciences, 4*(4). 55-61.

[41] Alghooneh, A., Alizadeh Behbahani, B., Noorbakhsh, H., Yazdi, F. T. (2015). Application of intelligent modeling to predict the population dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* in Frankfurter sausage containing Satureja extract. *Microbial Pathogenesis. 85*, 58-65.

[42] Arbab, S., Ullah, H., Weiwei, W., Wei, X., Ahmad, SU., Wu, L., & Zhang, J. (2021). Comparative study of antimicrobial action of aloe vera and antibiotics against different bacterial isolates from skin infection. *Vet Med Sci. 7*(5), 2061-2067.

[43] Mohebbi, M., Alizadeh Behbahani, B., Ansarifar, E., & Noshad, M. (2015). Antimicrobial effect of Aloe vera and chitosan “*in vitro*”. { اثر ضد میکروبی آلوئه ورا و کیتوزان در شرایط آزمایشگاهی}. *IRANA JOURNAL OF INFECTIOUS DISEASES AND TROPICAL MEDICINE. 19*(67), 21-29.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of antioxidant properties and antimicrobial potential of *Aloe vera* extract on a number of Gram-positive and Gram-negative bacteria: an *in vitro* study

Narges Sharifat[1], **Mohammad Amin Mehrnia**[*2], Hassan Barzegar[2], Behrooz Alizadeh Behbahani[2]

1–M. Sc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2–Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2024/7/3
Accepted:2024/8/26

Keywords:

Aloe vera gel,

Antibacterial،

Bioactive compounds,

Natural preservative.

DOI: 10.22034/FSCT.22.158.172.

*Corresponding Author E-mehrnia@asnrukh.ac.ir

ABSTRACT

Nowadays food products who contain "natural" ingredients are trending among consumers as a result of raising knowledge and awareness about food ingredients and their influence on human's body health. The aim of this study was to investigate the biochemical (total phenol and flavonoid) of Aloe vera aqueous extract as a natural preservative and determination of antioxidant and antibacterial activity of the extract. Total phenol and total flavonoid content of the aqueous extract was measured as 41.61± 0.78 mg GAE/g extract and 783.33 ± 5.13 mg QE/g extract respectively. Free radical scavenging activity determined at different concentrations of Aloe extract; at highest concentration (600 mg/ml) %68.395 inhibitory effect was estimated through DPPH assay and %50.075 through ABTS assay. Aloe extract showed a greater effect on Gram-positive bacteria through disk diffusion agar and well diffusion agar methods. Minimum inhibitory concentrations (MIC) for *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus* estimated 32, 64, 32, 16, 32 and 16 mg/mL respectively. Based on results in this study, Aloe vera aqueous extract can be a candidate to use as a preservative in food products.